

906

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



**Prevalencia de Mastitis en Ganado Bovino Lechero
de las Aldeas de Caxaque y La Federación del
Municipio de San Marcos, Departamento
de San Marcos.**

PRESENTADO POR:

Marco Vinicio Juárez González

PARA OPTAR EL TITULO DE

Químico Biólogo

GUATEMALA, MARZO DE 1998.

06
T(1861)
C.4

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. HERBERTH RAUL AREVALO ALVARADO
VOCAL V	BR. MANOLA ANLEU FORTUNY

DEDICO ESTE ACTO

A DIOS

A MIS PADRES MARCO ANTONIO JUAREZ LOPEZ
DORA HERMINIA GONZALEZ PEREZ

A MI ESPOSA ZOILITA MEJIA PEÑA.

A MIS HIJOS GEORGE, DANNY Y PABLO JUAREZ

A MIS HERMANOS CARLOS E. MONZON

DORA E. JUAREZ

MARCO A. JUAREZ

A MIS SUEGROS MIGUEL ANGEL MEJIA (Q.E.P.D.)

PAULA PEÑA (Q.E.P.D.)

A MIS SOBRINAS MIRNA, GABRIELA, SULMA Y GLENDA

A MIS SOBRINOS ADOLFO (Q.E.P.D.), MARCO ANTONIO,

LUIS EMILIO Y MANUEL VINICIO

A MI CUÑADO LUIS E. RODRIGUEZ

A MIS CUÑADAS MARIA ELENA DE MONZON Y FLOR DE

MARIA PEREZ

A MI FAMILIA EN GENERAL

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

DEDICO ESTA TESIS

A DIOS

A MIPATRIA

GUATEMALA

A MI TIERRA

SAN MARCOS

A MI CASA DE ESTUDIO UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE

GUATEMALA Y A LA FACULTAD DE

CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

A LAS SIGUIENTES INSTITUCIONES

SANATORIO CENTROMEDICO SAIL

ESCUELA NAC. DE AGRICULTURA

EFA.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE HICIERON POSIBLE LA

REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO

INDICE

	Pag.
1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCION.....	3
3. ANTECEDENTES.....	5
4. JUSTIFICACIONES.....	32
5. OBJETIVOS.....	34
6. HIPOTESIS	35
7. MATERIALES Y METODOS	36
8. RESULTADOS.....	42
9. DISCUSION DE RESULTADOS.....	44
10. CONCLUSIONES.....	46
11. RECOMENDACIONES.....	47
12. REFERENCIAS	48
13. ANEXOS	54

I RESUMEN

Se evaluaron las pruebas de California Mastitis Test, Gram Cultivo e Identificación del agente causal para el diagnóstico de mastitis bovina, utilizando para ello 680 muestras de leche provenientes de 170 vacas aparentemente sanas. Siendo el propósito del estudio determinar la prevalencia de mastitis bovina en las aldeas de Caxaque y la Federación, en el municipio de San Marcos departamento de San Marcos, y determinar la correlación entre las pruebas de California Mastitis Test (prueba de campo para el diagnóstico de mastitis bovina), Gram Cultivo e identificación del agente causal (pruebas confirmatorias de mastitis bovina). Los resultados indicaron que la prevalencia en dichas aldeas es del 30 %, encontrándose una diferencia significativa entre las pruebas utilizadas en el estudio, se concluyó que la prueba de California Mastitis Test debe continuarse utilizando a nivel de campo en forma rutinaria y confirmar todas aquellas muestras que sean sospechosas de mastitis subclínica y que presenten un resultado dudoso, utilizando para ello pruebas de laboratorio como Gram, cultivo e identificación del agente causal para el diagnóstico de mastitis bovina.

II. INTRODUCCION

La mastitis, es la reacción inflamatoria de la glándula mamaria que puede ser ocasionada por diversos factores, entre los cuales podemos mencionar físicos (golpes), mecánicos (manipulación) e infecciosos (bacterias)(1,2).

En ganado bovino la mastitis puede presentarse en forma clínica con alteraciones manifiestas, tanto en la ubre como en la secreción láctea o en forma subclínica que será cuando el número de células somáticas en la leche sea mayor de 500,000 por mililitro y no se establezca ninguna alteración en la secreción láctea, ni en el exterior de la glándula mamaria. El tipo de manifestaciones clínicas en la ubre pueden ser: calor, edema, dolor, atrofia del tejido mamario y fibrosis; y en la leche: presencia de coágulos, copos, pus, moco y alteraciones en el color que va de un color amarillo a marrón (1,2,3).

La mastitis representa un serio problema en nuestro medio, ya que sus efectos dañan tanto al sector pecuario, como a la salud pública en general, disminuyendo la calidad de la leche que es un producto básico en la alimentación diaria, especialmente en la población infantil, y además, es fuente potencial de agentes infecciosos causantes de enfermedades, tales como la tuberculosis (Zoonosis), que resultan nocivas para la salud humana (1).

El sector pecuario se ve afectado en el área económica, debido a la baja en la producción de la leche, animales que se descartan a temprana edad por la pérdida de una o más cuartos de la glándula mamaria y por los costos de tratamiento que la enfermedad representa (1,2,4).

Se ha establecido que la mastitis ocasiona pérdidas económicas significativas, por lo que, se considera importante el uso de un método rápido, fácil de aplicar, eficaz y económico para su diagnóstico. Actualmente en Guatemala el método más utilizado es de California Mastitis Test, que se basa en la utilización del reactivo Alkil Aril Sulfonato, el cual reacciona con las proteínas de origen leucocitario contenidas en la leche, produciendo así un gel; contiene, además el indicador púrpura de bromocresol para determinar el pH; mientras que las pruebas microbiológicas de diagnóstico (Gram, cultivo e identificación del agente infeccioso), no han sido utilizadas extensamente en este campo. Las pruebas microbiológicas ayudan a determinar mastitis en sus inicios, sin que el animal presente síntoma alguno de infección (2, 4, 5, 6).

El presente estudio pretende determinar la prevalencia de mastitis en las aldeas de Caxaque y la Federeación, en el municipio de San Marcos departamento de San Marcos, como áreas de mayor población de ganado bovino productor de leche; y correlacionar las pruebas de California Mastitis Test y microbiológico (Gram, cultivo e identificación del agente infeccioso), para el diagnóstico de mastitis en ganado bovino productor de leche.

III. ANTECEDENTES

1. DEFINICION

La mastitis bovina se define como un complejo inflamatorio de la glándula mamaria, primaria o secundaria, aguda o crónica, con alteración anatómica y funcional, la cual resulta de la interacción entre agentes infecciosos y prácticas de manejo deficientes. Generalmente esta enfermedad está asociada con una infección bacteriana (1,2).

2. ETIOLOGÍA

Los agentes frecuentemente encontrados en la mastitis bovina son *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp* y ciertos coliformes como *Escherichia coli*.

Existen otras bacterias que con menor frecuencia se aíslan en leche de ganado con mastitis. Además, se han encontrado infecciones causadas por hongos, levaduras, algas y algunos virus, sin aislarse ninguno específico. También algunas enfermedades sistémicas causan lesiones que predisponen al apareamiento de la enfermedad, en las que se incluye la leptospirosis (1,5,7,8).

3. EPIDEMIOLOGIA

La mastitis es una enfermedad de distribución mundial, con una prevalencia de 40% en la mayoría de países y un 25% por cada lechería (1,5,8).

3.1. Diseminación de la infección: la infección de la glándula mamaria que ocurre a través del conducto de la teta, se origina de dos fuentes principales: la ubre infectada y el medio. En bovinos lecheros, las infecciones importantes son aquellas que persisten con facilidad en la ubre, en especial *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*. Las bacterias que viven normalmente en el medio como *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, causan mastitis con mucho menos frecuencia, pero cuando lo hacen, la enfermedad es mucho más difícil de ser controlada con medidas higiénicas adecuadas. La contaminación de manos de los ordeñadores, paños para lavado y copas de aparatos para ordeño, por leche de lecherías contaminadas, pueden conducir con rapidez, a la diseminación de la infección a las tetas de otros animales (5).

3.2. Epidemiología

3.2.1. Agente

Las características que hacen al agente más o menos eficaz para desarrollar una mastitis son:

Resistencia del microorganismo a influencias ambientales, incluyendo procedimiento de limpieza y desinfección; capacidad del microorganismo de colonizar el conducto de la teta; capacidad del microorganismo de adherirse al epitelio mamario y establecer una reacción mastítica; resistencia del

microorganismo al tratamiento con antibióticos y por último grado, frecuencia y período de exposición, para causar la infección (5).

A continuación se describen algunas características de los microorganismos responsables de mastitis:

3.2.1.1. *Staphylococcus aureus*

Microorganismo que forma parte de la microbiota bacteriana normal de la piel y mucosas del hombre y de los animales de tipo oportunista, ya que ordinariamente se encuentra sobre los tejidos y espera las condiciones adecuadas para invadirlos. Microorganismo esférico y a veces ligeramente aplanado por uno de los lados, cuando hay dos juntos. El diámetro de las células varía de 0.8 a 1 μm . No produce esporas, ni cápsulas, ni flagelos. A la coloración de Gram es positivo (2,9,10).

S. aureus crece bien en todos los medios ordinarios de laboratorio, y muy abundantemente en los que contienen sangre o suero, en agar-sangre las colonias presentan una beta-hemólisis; las colonias son de 1.0 a 2.0 mm. de diámetro, circulares, uniformes, relucientes y con una consistencia parecida a mantequilla. Los medios selectivos son útiles para el aislamiento, especialmente los que contienen un elevado porcentaje de cloruro sódico, tales como el agar-manitolal, en cual es fermentado por este microorganismo. Es aerobio y anaerobio facultativo. La temperatura óptima de crecimiento es de 37°C. Tiene amplia tolerancia para las oscilaciones de pH, pero el óptimo es de 7.2 (9,10,11).

S. aureus interviene en la mayor parte de los procesos supurativos de heridas en el hombre y los animales, como en el ganado bovino produciendo mastitis. Parece ser que su presencia en la mama bovina va en aumento. Packer lo halló en el 76% de las muestras de leche, en las que se comprobaron bacterias productoras de mastitis sobre un total de 296. MacDonald halló estafilococos en más de la mitad de 280 muestras de leche examinadas en Norfolk, Inglaterra, según estos resultados se asegura que las vacas viejas están más predispuestas a la infección, aunque algunas pueden adquirir resistencia. La gravedad de las infecciones del hombre y los animales, probablemente, depende de las toxinas que se producen (2,10,11,12).

La comprobación de estafilococos en las extensiones directas de una lesión mamaria, tiene valor diagnóstico si existe en gran número y es el único microorganismo encontrado. Para un mejor y seguro diagnóstico la identificación de *S. aureus* se logra empleando medios y técnicas especiales que ayudan a evidenciar sus propiedades bioquímicas (Anexo No. 1 tabla No.1) (2,9,10,11,13,14).

3.2.1.2. *Streptococcus agalactiae*

Microorganismo cosmopolita, que se aísla en cualquier parte donde existan vacas lecheras. La frecuencia de la mamitis estreptocócica, suele ser alta. Hasta el 80% se ha señalado en grandes establos lecheros. Pocos están completamente libres de la enfermedad, generalmente el modo más frecuente de diseminación es mediante las manos del ordeñador, o las pezoneras de la

ordeñadora mecánica. Son microorganismos esféricos u ovoides, de menos de 2 μm de diámetro, se presentan en pares o cadenas cuando se desarrollan en medio líquidos. Algunas cepas son ocasionalmente móviles especialmente en el grupo serológico D., con la tinción de Gram son positivo (2,10,11,13).

Este microorganismo puede aislarse directamente de la leche de mamas infectadas sobre medio sólidos como agar-sangre, donde aparecen las características colonias de los estreptococos, pequeñas, en forma de gotitas transparentes, en medios líquidos produce flóculos en el fondo del tubo, con líquido sobrenadante claro. En agar sangre produce una estrecha zona de hemólisis beta o alfa, según las cepas. Es aerobio y microaerófilico, y crece óptimamente a 37°C (2,10,11,13).

La resistencia de esta especie es similar a la de *S. pyogenes*; sin embargo, *S. agalactiae* ha sido hallado en la leche pasteurizada. Esto parece demostrar que el germen es capaz de resistir algunas veces la temperatura de pasteurización. Watts ha demostrado que *S. agalactiae* permanece vivo durante tres años, desecando totalmente un cultivo de leche sobre ácido sulfúrico puro. Spencer McCarter y Beach llegaron a la conclusión de que *S. agalactiae* muere rápidamente en el establo, a las 24 horas ha muerto la mayoría, pero unos pocos pueden vivir hasta seis a nueve días. Estos investigadores comprobaron la presencia del germen en las manos de los vaqueros que habían atendido a las vacas infectadas (2).

S. agalactiae produce una mastitis parenquimatosa caracterizada por su aparición aguda, seguida de un proceso crónico progresivo, que produce la

fibrosis de la glándula infectada. Corrientemente, la infección es permanente, pasando de un período de lactación a otro con ataques agudos ocasionales (2).

El aspecto de la leche en la mastitis es muy variable, dependiente sobre todo de la gravedad y etapa de la infección. En las fases agudas aparecen masas de coágulos formados por un exudado purulento, tejido necrosados, proteínas lácteas coaguladas y bacterias. En los casos crónicos, la mama puede aparecer normal macroscópicamente, pero generalmente hay un ligero aumento del número de leucocitos y una cantidad elevada de estreptococos. Este microorganismo no es patógeno de otros animales domésticos solamente de la vaca y de la cabra. Aunque *S. agalactiae* ha sido aislado de varios tejidos humanos, se considera que sólo tienen un poder patógeno oportunista para el hombre (2,13).

El aislamiento de estreptococos de la leche es prueba de mastitis. Este se hace sembrando el microorganismo en medios adecuados, de preferencia el agar-sangre, puesto que no sólo crece bien sino que se aprecia también su acción sobre la sangre. La demostración de los estreptococos en la leche debe ir seguida de la identificación y la utilización de sus propiedades bioquímicas para establecer un diagnóstico exacto (Anexo No.2 tabla No.2) (2,10,11,13,14).

Género *Pseudomonas*

El género *Pseudomonas* se hallan distribuidas ampliamente en la naturaleza. La mayoría de las especies producen un pigmento hidrosoluble,

verde azul o verde amarillento que se difunde en el medio de cultivo sobre el que crece. Son bacilos rectos o curvos pero no vibroides; con un tamaño de 0.5 - 1.0 μm por 1.5 - 4.0 μm , sin esporas, gram negativo; con flagelos polares únicos o múltiples sin envoltura, metabolismo respiratorio nunca fermentativo, aunque pueden producir pequeñas cantidades de ácido a partir de glucosa de forma aeróbica (2,10,11).

Con fines de generalización solamente una especie, *Pseudomonas aeruginosa*, está asociada con procesos infecciosos en el hombre y animales, en vacas como agente etiológico de mastitis en ganado bovino lechero.

3.2.1.3. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa es cosmopolita, bacilo delgado de 0.5 μm de ancho por 1-3 μm de largo, con extremos redondeados. Es móvil gracias a uno o tres flagelos polares, no forma cápsulas ni esporas, y es Gram-negativo. Se cultiva fácilmente en los medios corrientes de laboratorio en aerobiosis; sin embargo, puede crecer anaeróbicamente. Las colonias en agar son grandes, irregulares, translúcidas, extensas, grises, con un centro oscuro y de borde entero u ondulando. Por el medio se difunde un pigmento verde-azulado soluble en el agua, aunque no todas las cepas lo producen. En caldo crece abundantemente formando una gruesa película, densa turbidez y sedimento espeso (2,9,11,13).

Según Cone y Tucker, este microorganismo puede producir casos graves de mastitis. Un caso de infección generalizada aguda en bovinos ha sido descrito por Gardiner y Craig y se caracteriza por pleuritis y pericarditis fibrinosa

acompañada de extensas lesiones renales (15). La presencia de *P. aeruginosa* en una enfermedad equina no ha sido señalada hasta en 1949, cuando Doll, Bruner y Kinkaid la aislaron de un feto abortado. El microorganismo se ha aislado frecuentemente del tracto genital de las especies equina y bovina. Como consecuencia de ello, puede aislarse con regularidad en el semen de toro (2).

Muchas infecciones humanas han sido atribuidas a esta bacteria, entre ellas se incluyen las siguientes: infección del oído interno, pericarditis, meningitis, septicemia, bronconeumonía, diarreas infantiles e infecciones de heridas (2,12).

El diagnóstico se hace mediante el aislamiento de cultivo puro, de muestras obtenidas de ubres inflamadas. Frecuentemente actúa como invasor secundario acompañado a estreptococos y estafilococos, por cuya razón es esencial la siembra en medios apropiados como MacConkey y su posterior identificación utilizando sus propiedades bioquímicas (Anexo No.3 tabla No. 3) (2,10,13,14).

3.2.2. Huésped

3.2.2.1. Factores anatómicos:

La transmisión, penetración y establecimiento de las bacterias en la ubre, son favorecidas por ciertas malformaciones ya sea de la teta, canal de la teta o la ubre. Las glándulas flácidas y pendulantes, a consecuencia del relajamiento del ligamento suspensorio medial, provocan un acercamiento de los pezones

hacia el suelo, lo que favorece golpes, heridas y contaminación con excremento del suelo (1,16).

Es también de importancia mencionar entre los factores anatómicos del huésped que predisponen a la infección:

Tamaño, localización y forma del pezón. Teta de forma, cóncava al final, con apariencia de embudo y orificio dilatado. Tetas pequeñas que pueden ser más fácilmente lesionadas durante el ordeño manual. Tetas grandes que son más vulnerables a sufrir golpes e infecciones bacterianas por encontrarse más expuestas que las pequeñas. Tetas que posean un tono muscular bajo son más susceptibles por la baja resistencia que muestran a la abertura del meato de la teta. El aumento del diámetro del canal de la teta, conforme transcurren las lactaciones (1,16).

3.2.2.2. Factores fisiológicos:

Las infecciones de la glándula mamaria incrementan conforme la edad, atribuyéndose esto a las lactaciones sucesivas; siendo así que en vacas de tercera, cuarta y quinta lactación, la relación aumenta en un 40%, 50% y hasta 100%, con respecto a la primera lactación (1).

Una mayor incidencia de la enfermedad suele encontrarse en animales estando en el período que va del parto al pico de lactación, atribuyéndose esto al aumento de presión interna producida por un acumulo de leche, que abre el canal de la teta, permitiendo la salida de la leche y consecuentemente facilitando la entrada de las bacterias que se encuentran en la piel (1).

3.2.3. Medio Ambiente

3.2.3.1. Características del medio:

Los animales en pastoreo tienen un menor riesgo de padecer mastitis, aunque en pastoreo las condiciones ambientales son incluso más desfavorables, por ejemplo en los abrevaderos el suelo se mantiene húmedo y los animales se hunden en el lodo, por lo que, la ubre se ensucia y al secar el lodo se forman lesiones en la piel que favorecerán una posterior mastitis (1, 16).

También las condiciones ambientales extremas favorecen la mastitis, al buscar los animales áreas protegidas que por la aglomeración, generalmente se contaminan. Un enfriamiento en la ubre puede causar estasis sanguíneo en las arterias periféricas, lo cual sumando a camas húmedas y frías, pisos ásperos, mojados o con deyecciones, puede favorecer la irritación de la ubre y pezones, causando lesiones en la piel que predisponen a padecer mastitis, además climas demasiado secos o húmedos pueden originar lesiones de las patas que al causar recumbencia en el animal, predisponen a padecer la enfermedad (1,16,17).

3.2.3.2. Factores que predisponen a padecer la mastitis:

Áreas contaminadas, áreas con diferentes tipos de obstáculo, entradas y salidas peligrosas en las salas de ordeño y áreas resbaladizas o espacios reducidos para el alojamiento de los animales (17).

Condiciones de la Explotación

El más importante de los factores que favorecen el desarrollo de mastitis, es la higiene que no se renuevan periódicamente. Suelos irregulares, con poca frecuencia de traumas. Salas de ordeño, favorecerán el apareamiento

de la explotación que favorecen el desarrollo de mastitis (17). Pisos con drenajes pobres y sucios, favorecen la proliferación de bacterias que sobre favorecen lesiones a la ubre a través de resbaladizo, equipo desajustado y contaminación (16,17).

Condiciones de manejo

Cuando el intervalo entre ordeños es prolongado ocasiona presión al esfínter de la ubre a los senos galactíferos. Lo que favorecerá la proliferación de bacterias. Un mal ordeño favorecerá lesiones a la ubre ideal para el alojamiento de las bacterias. Los ordeñadores o del equipo de ordeño favorecerán la enfermedad dentro del hato (5).

Cuando el intervalo entre ordeños es prolongado, se produce estasis láctea en la ubre, facilitando así la entrada de bacterias, aunado a un ordeño incompleto, favorecerá el tejido mamario (1,16).

Algunas prácticas de manejo que favorecen el desarrollo de la enfermedad, son: presión excesiva del agua por la máquina o de la mano, durante el ordeño; presión excesiva del agua por la máquina o de la mano, durante el ordeño; aplicación de la presión a las tetas antes de que se retiren las copas de ordeño y retraso en la remoción de

la mucosa cisternal que puede ser un factor de riesgo. La contaminación de las manos durante el ordeño favorecerán la diseminación de la enfermedad dentro del hato (5). Durante el ordeño que predisponen al desarrollo de la enfermedad, son: el masaje brusco de la ubre antes del ordeño; presión excesiva ya sea por la máquina o de la mano, durante el ordeño; remoción de las copas de ordeño; aplicación de la presión a las tetas antes de que se retiren las copas de ordeño (17).

4. TRANSMISIÓN:

4.1. Las vías de transmisión pueden ser

4.1.1. Por infección galactógena: a través del pezón por el conducto del mismo, cisterna y conducto galactóforo.

4.1.2. Por heridas: a través de pérdidas de continuidad en la piel de los pezones a la mama.

4.1.3. Por infección hematógena: a través de la corriente sanguínea a partir de otro foco de infección en el mismo organismo (1).

4.2. Los mecanismos de transmisión dependen de

El grado de infección del medio, incluyendo cuartos infectados; eficiencia del personal y aparatos de ordeño, incluyendo ordeño de alta velocidad y en especial, la higiene de la sala de ordeño; susceptibilidad de la vaca que guarda relación con: fase de lactancia, siendo más susceptible durante la fase temprana. Edad de la vaca, las vacas mayores son más susceptibles. Nivel de resistencia hereditaria, posiblemente en relación con la forma de la teta y anatomía del conducto de la teta. Lesiones de la piel de la teta, en especial del orificio. Factores inmunitarios, incluyendo estado leucocitario de cada glándula mamaria y entre otras, una infección anterior, en especial por *S. aureus*. Las infecciones por otras bacterias de baja patogenicidad, por ejemplo *Corynebacterium bovis* y *S. epidermidis* aumentan la resistencia a patógenos productores de mastitis, al provocar un aumento del contenido de células polimorfonucleares en la leche (5).

4.3. Las fuentes a partir de las cuales se puede efectuar la transmisión, pueden ser: manos del ordeñador, copas de máquinas de ordeño, objetos contaminados, experimentalmente se ha efectuado mediante la ingestión de alimentos contaminados (1,16).

5. PATOGENIA

Salvo en la tuberculosis en el que la diseminación puede ser hematogena, la infección de la glándula mamaria ocurre casi siempre siguiendo la vía del conducto glandular (1,18).

Para explicar el desarrollo de la mastitis conviene dividirlo en tres etapas: invasión, infección e inflamación.

5.1. Invasión:

Es la etapa en que los microorganismos del exterior de la ubre pasan a la leche contenida en el ducto glandular. En esta etapa se ven implicados:

Presencia y densidad de bacterias causales en el medio. Frecuencia en la cual los pezones, especialmente los ápices se infectan con estas bacterias. Grado de lesión de los esfínteres de los pezones que facilita la entrada de bacterias al conducto glandular. Tono de los esfínteres de los pezones, especialmente luego del período de ordeño en que se encuentran relajados, permitiendo mayor facilidad de penetración de las bacterias. Presencia de sustancias antibacterianas en el conducto glandular (1,7,14,16,19,20,21).

La prevención de la invasión brinda las mejores posibilidades para disminuir la frecuencia de la enfermedad, sobre todo mediante el uso de medidas de higiene apropiadas (1,5,16).

5.2. Infección

Es cuando los gérmenes se multiplican rápidamente e invaden el tejido glandular, dependiendo de la susceptibilidad del animal (1,5).

En esta etapa se ven implicados: tipo de bacteria que determina su capacidad para multiplicarse en la leche y adherirse al epitelio mamario. Susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos normalmente empleados. Presencia de sustancias protectoras en la leche, anticuerpos y células de defensa. Etapa de lactancia con flujo lácteo continuo (1,5).

5.3. Inflamación:

Es la etapa en la que reacciona el tejido glandular afectado, durante la cual aparece la mastitis clínica y aumenta notablemente la cuenta de leucocitos en la leche ordeñada, aquí se implica: la susceptibilidad de los tejido mamáreos a las bacterias. Patogenicidad y capacidad invasora de las bacterias, por ejemplo los *Streptococcus* causan poco cambio patológico a las células secretoras, mientras que los *Staphylococcus* causan poco cambios macroscópicos degenerativos (5,6,22).

Al inicio de la infección de la ubre o mastitis, se sucede una acumulación de leucocitos para combatir las bacterias invasoras, por lo que, algunos de los elementos que constituyen la sangre penetran a la leche, esto da pie a

clasificar las pruebas de mastitis en aquellas que descubren al agente causal y las que descubren los cambios en la composición de la leche, en sentido más semejante a la sangre (pH, cloruros, catalasa, gram, cultivo) (13,23).

Después del parto, durante las primeras 72 horas, las pruebas de mastitis no son concluyentes, debido a que el calostro contiene un 28% más de sólidos totales que la leche normal (12.5%), siendo eficaces únicamente las pruebas bacteriológicas (7).

6. CLASIFICACIÓN

6.1. Clasificación de los cuartos de la glándula mamaria: según la Federación Internacional de Lácteos (1966): cuarto normal, mastitis séptica, mastitis latente, mastitis subclínica y mastitis clínica (1,24,25).

6.1.1. Cuarto Normal

No presenta alteraciones externas, es mejor apreciado con la glándula completamente vacía. el tejido manipulado debe ser suave y flexible sin ninguna evidencia de inflamación, en conjunto la ubre incluyendo los pezones, deben estar en buenas condiciones. En algunos casos al final de la lactación, puede existir un incremento de células leucocitarias, pero sin pasar de 500,000/ml (1).

6.1.2. Mastitis Aséptica

El pezón es normal externamente. Esta mastitis se caracteriza por un incremento de células y que casi siempre las bacterias causantes de mastitis no aparecen en los cultivos. El tejido glandular no muestra alteración. Esta forma

de infección puede cambiar a mastitis clínica. Generalmente aparece donde el método de ordeño y/o el equipo no trabajan bien (1,24).

6.1.3. Mastitis Latente

El pezón no muestra alteración externa; en la leche se encuentran bacterias causantes de mastitis cuando el número de leucocitos no ha aumentado, casi siempre es una infección del pezón por *S. agalactiae*. Esta forma aparece en fincas con buenas técnicas de ordeño, buen equipo y solamente si esto se deteriora, estas mastitis pueden cambiar a subclínica o clínica (1,24).

6.1.4. Mastitis Subclínica

No se observa alteración alguna en el exterior de la ubre, sin embargo las bacterias patógenas se aíslan de la leche y el número de leucocitos en la misma es mayor de 500,000/ml (1,24).

6.1.5. Mastitis Clínica

El pezón muestra alteración. En casos severos se encuentra bastante inflamado, duro, caliente y doloroso. La secreción está generalmente alterada. En estos casos la vaca se muestra enferma y la leche contiene un número elevado de células y bacterias (1,24).

6.2. Formas de Mastitis

Entre estas encontramos Intersticial, Exudativa, Supurativa, Gangrenosa y Fibrosa (1).

6.2.1. Mastitis Intersticial

Este tipo de inflamación ocurre en el tejido que circunda los alveolos, según progresa la enfermedad, la inflamación se extiende entre ellos y los

conductos que salen de éstos, bloqueando algunos, de lo que resulta una pérdida de función. Algunos microorganismo causantes de este tipo de mastitis son: *Brucella abortus* y cierto tipo de *Streptococcus* (1).

6.2.2. Mastitis Exudativa

Se inicia probablemente igual que la anterior, pero es más severa, llenando de exudado los alveolos y lumen de los conductos (1).

6.2.3. Mastitis Supurativa

Se caracteriza por formar abscesos en el pezón afectado, con mucho pus y cambios en el tejido de la ubre (1).

6.2.4. Mastitis Gangrenosa

La bacteria causante produce toxinas que dañan los vasos sanguíneos, resultando en la destrucción de todas las partes de la ubre que ellos surten. La parte afectada de la ubre se torna azul, negra, fría y eventualmente se cae (1).

6.2.5. Mastitis Fibrosa

Es el resultado de los otros tipos de mastitis; el tejido normal de la glándula es reemplazado por tejido conectivo fibroso (1).

7. SINTOMATOLOGIA

Según la resistencia del tejido mamario y la virulencia de las bacterias invasoras, pueden observarse todos los grados de variación en los signos, desde el comienzo gradual con fibrosis, pasando por inflamación aguda sin reacción general, hasta toxemia grave con signos generales manifiestos (5).

Como muchas de las especies de bacterias pueden producir formas preagudas, agudas y crónicas de la enfermedad, generalmente es imposible establecer una diferenciación clínica de los tipos bacteriológicos de mastitis (5).

7.1. Las formas clínicas de mastitis suelen clasificarse según su gravedad

7.1.1. Preaguda: es la inflamación intensa de una de los pezones de la glándula con reacción general manifiesta (5).

7.1.2. Aguda: es la inflamación grave sin reacción general (5).

7.1.3. Subaguda: es la inflamación leve con anomalías persistentes de la leche (5).

7.1.4. Crónica: es cuando se presenta ataques recurrentes de inflamación con poco cambio en la leche (5).

7.2. Anomalías de la leche

El examen apropiado de la leche requiere el empleo de una copa para el análisis, de preferencia con fondo negro brillante que permita la identificación de cambios de color o la presencia de coágulos, copos, pus restos de fibrina, moco o cualquier otro material extraño en la leche. Las infecciones crónicas latentes raramente serán identificadas así (1,2,5,6,11).

En casos de mastitis aguda la secreción láctea altera sus caracteres, es escasa y su color es marrón claro parecida al suero y acompañada de coágulos. El número de células leucocitarias aumentará en la leche, especialmente a base de neutrófilos, el pH aumenta debido a que la concentración de lactosa y

caseína están reducidas y que el cloruro de sodio y el bicarbonato sódico están aumentadas, la leche es más alcalina (1).

En las inflamaciones agudas poco intensas, se reducirá la cantidad de leche producida, no sólo en el pezón inflamado sino también en los pezones sanos y la secreción del pezón afectado conservará su carácter lácteo, pero tendrá una tonalidad blanco, azulada, amarillenta o rojiza con presencia de coágulos (1).

En las mastitis crónicas los cambios de la leche son continuos e intermitentes, por lo que, no siempre se mostrarán alteraciones manifiestas. Las alteraciones de la leche consistirán casi siempre en un sabor salino más o menos apreciable (1).

La leche puede tener aspecto acuoso, lo que indicará mastitis crónica cuando el pezón del que procede está en lactancia; cuando la leche tiene aspecto acuoso durante los primeros chorros, al ordeño no se le concede importancia, pero si persiste después de 10 extracciones o más, debe considerarse anormal. Los coágulos de leche o copos suelen acompañarse de cambios de color y son siempre importantes, ya que suelen indicar grado intenso de inflamación, incluso cuando son pequeños y sólo se observan en los primeros chorros (5).

Los cuábulos de sangre carecen de importancia, así como los pequeños tapones céreos que se observan en la leche durante los primeros días de puerperio, sobre todo en primíparas (5).

La presencia de copos al final del ordeño suele indicar tuberculosis mamaria en bovinos (5).

7.3. Anomalías en la ubre

En todas las formas de mastitis la palpación descubrirá la presencia de calor, edema y dolor, ó se podrán descubrir fibrosis y atrofia del tejido mamario que variarán de grado dependiendo de la intensidad de la reacción inflamatoria (1,5).

Puede haber aumentado difuso de tejido conectivo, lo que da al cuarto afectado una sensación de firmeza superior a la del opuesto y casi siempre, una superficie más nodular por palpación ligera (5).

Es posible también la aparición de áreas locales de fibrosis en un pezón que puede variar en tamaño. La tumefacción aguda es siempre difusa y se acompaña de calor, dolor y anomalía manifiesta de la secreción (5).

En la mastitis gangrenosa aguda, el pezón afectado inicialmente, está edematoso y caliente, desarrollándose rápidamente una coloración azul en la piel del mismo y en una parte de la glándula (1).

En las mastitis crónicas es fácil descubrir zonas fibrosas en los pezones enfermos, perfectamente palpable y sin calor, dolor, congestión, etc. La etapa final de la mastitis crónica es la atrofia de la glándula (1,5).

7.4. Manifestaciones generales

La reacción general del animal depende de la intensidad de la enfermedad local, según el tipo y gravedad de la infección puede comprobarse o no signos generales como: toxemia, fiebre, depresión general, anorexia, incremento de la frecuencia respiratoria y pulso (1,5).

En las etapas finales de la mastitis gangrenosa aguda, la toxemia causará depresión profunda con apatía e hipotermia (1).

En las mastitis agudas, también hay disminución y hasta suspensión de la rumia. En las mastitis crónicas generalmente no se presenta ningún tipo de alteración general (1).

8. DIAGNOSTICO

8.1. Examen clínico

El examen físico del animal, con palpación e inspección de la glándula mamaria y sus secreciones y la historia individual y del hato, pueden llevar a establecer un diagnóstico tentativo (17,26).

El examen clínico puede realizarse de acuerdo a la siguiente metodología:

8.1.1. Inspección: debe observarse detenidamente la glándula mamaria, para apreciar situaciones anormales, deformaciones, etc., comprobando cada impresión con la glándula semétrica (1,26).

8.1.2. Palpación: debe iniciarse por los pezones, rodar la punta del pezón entre la yema de los dedos, palpar el pezón desde su extremo distal hasta la base. Se busca comprobar la existencia de tumefacciones, heridas o neoformaciones, así como sensibilidad al dolor. La facilidad de ordeño del esfínter se comprueba extrayendo algunos chorros de leche. Cuando la glándula ha sido ordeñada, se distiende normalmente con facilidad, en caso contrario aparece tensa en los diferentes cuartos según el grado de producción. Un edema intenso durante la lactancia o el período seco, es un signo

patológico. Cada pezón se debe examinar en busca de granulaciones, induraciones, atrofia y sensibilidad dolorosa (1,26).

8.1.3. Examen de la secreción láctea: es necesario y deberán tomarse en cuenta los siguientes parámetros: consistencia, color, viscosidad, presencia de fragmentos tisulares o mucoides, olor, sedimento (17,26).

Para lo cual, comunmente se utiliza la prueba del paño negro o taza de fondo oscuro.

8.2. Por medio de métodos físicos

Prueba del paño negro o taza del fondo oscuro y medición de la conductividad eléctrica de la leche (1,6,22).

8.3. Por medio de métodos químicos

Determinación del pH, prueba de cloruros en la leche, prueba de la catalasa, determinación de sodio en la leche, determinación de lactosa en la leche, determinación de potasio en la leche, concentración de albúmina sérica en la leche y presencia de antitripsina en la leche (1,19,27).

8.4. Por medio de métodos basados en el conteo de células somáticas en la leche

Pruebas de Whiteside y de Wisconsin; método directo microscópico para conteo de células somáticas: clases O y D; método de la cámara de Neubauer usando el colorante de Turk; conteo de células con contador electrónico Coulter Comter; método Fosomático para conteo celular; prueba de la muestra de leche incubada; mMétodo de filtro de membrana DNA (MFDNA); examen microscópico directo por el método de Breed-Moreira Jacob y conteo

diferencial de células con láminas coloreadas con Wright (1,6,8,14,15,20,29,30,31)

8.5. Ventajas de estos cabe mencionar

Económicos, bajo porcentaje de error y útiles para la detección de mastitis subclínica efectuado un simple conteo celular (27,29).

8.6. Desventajas de estos métodos se pueden mencionar

Son de utilidad cuando el diagnóstico se está efectuando en vacas, no así en cabras, debido al número de las células epiteliales presentes normalmente en esta leche; no poseen un cien por ciento de eficacia, no identifican al agente causal lo que es una limitante para el tratamiento y algunos autores reportan que en ocasiones, el alto número de células es indicativo de una afección en el canal de la teta y no exactamente en el tejido mamario (27,32,33).

8.7. Técnicas para el Diagnóstico de Mastitis

Prueba de California Mastitis Test y examen microbiológico (Gram, cultivo e identificación del agente infeccioso).

8.7.1. Prueba de California Mastitis Test

Es una de las pruebas más rápidas y seguras que existen para la determinación de mastitis. Esta prueba utiliza como reactivos el Alkil Aril Sulfonato, el cual reacciona con las proteínas de origen leucocitario contenidas en la leche, produciendo así un gel, contiene, además el indicador púrpura de bromocresol para determinar el pH (1).

El diagnóstico e interpretación de resultados se hace según la viscosidad del gel, del cual se obtiene una relación aproximada de células existentes en la muestra (Anexo No.4 tabla No.4) (5).

Las vacas durante la primera semana después del parto o en las últimas etapas de la lactancia dan siempre reacción fuertemente positiva (5).

La prueba CMT tiene la ventaja de que puede utilizarse leche total de una vaca, muestras contenidas en recipientes individuales o muestras totales de leche en tanque, así como muestras de cuartos glandulares independientes (5).

Entre sus desventajas es obvio que los resultados se hacen menos exactos a medida que ocurre una dilución mayor y las cuentas permisibles, deben ser menores para rebaños que producen volúmenes mayores de leche. Las muestras de tanques de leche de la manada tolerarán en promedio cerca de 18% de vacas positivas antes de mostrar un reacción 1+. Un grado 1+ de reacción en la leche de la vacada sugiere la presencia de mastitis, mientras que un grado 2+ o 3+, constituye índice de una situación grave (5,6).

8.7.2. Coloración de Gram

En este procedimiento, el frote bacteriano teñido se somete a las soluciones siguientes en el orden que se indica: cristal violeta, solución de yodo (mordiente), alcohol o alcohol-cetona (decolorante) y safranina o alguna otra solución colorante de contraste conveniente (como la fucsina básica). Las bacterias sometidas al método de Gram pertenecen a dos grupos: bacterias *gram-positivo*, que retienen el cristal violeta y aparecen color violeta

profundo; las bacterias *gram-negativo* que pierden el cristal violeta y por el contraste de la safranina aparecen rojas (2,11).

8.7.3. Cultivo e identificación

Para propósitos de nuestro estudio se cultivarán de la siguiente manera:

8.7.3.1. *Pseudomonas*: una muestra de leche se inocula en agar MacConkey, se incuba a 37°C, a las 24 hrs. de incubación se observan colonias características del microorganismo, seguidamente es identificado (Anexo No.3 tabla No.3) (10,11,13,14).

8.7.3.2. *S. agalactiae* (beta hemolítico): una muestra de leche se inocula en un medio de agar-sangre, se incuba a 37°C en una concentración baja de oxígeno; a las 24 hrs y se observa la formación de colonial que muestra una zona de beta-hemólisis, seguidamente se procede a su identificación (Anexo No.2 tabla No. 2) (10,11,13,14).

8.7.3.3. *S. aureus*: se inocula una muestra de leche en agar-sangre y manitol sal, se incuba a 37°C, a las 24 hrs. de incubación se observan colonias características del microorganismo, seguidamente es identificado (Anexo No.1 tabla No. 1) (10,11,13,14).

9. TRATAMIENTO

9.1. Los objetivos que se persiguen al realizar un tratamiento son

Mantener vivo al animal, restaurar la función glandular, mejorar la calidad de la leche y la eficiencia en la producción (17).

9.2. Las medidas específicas de la terapia se dirigen a

Eliminar el agente causal, destoxificación y soporte para animales afectados en forma sistemática y promover la restauración del tejido afectado. Para mastitis hiperagudas se recomienda tratar con antibióticos sistémicos y locales cada 24 horas por tres o cuatro días. Cuando existen manifestaciones toxémicas se puede tratar con antihistamínicos o corticosteroides con soluciones electrolíticas vía intravenosa. En mastitis agudas suele tratarse con infusiones antibióticas locales. En casos subagudos con antibióticos locales intramamarios. Para mastitis subclínica se trata con antibióticos intramamarios, previa evaluación de sensibilidad antibiótica y preferentemente durante el período seco (17,34,35).

Independientemente del antibiótico seleccionado, la leche no debe ser empleada para consumo humano antes de transcurridas 96 horas del último tratamiento. Cualquier tratamiento puede ser efectivo si se elimina la infección y se restablece la composición normal de la leche. Sin embargo, la producción aunque puede mejorar, no es probable que se normalice cuando menos hasta el siguiente período de lactancia. La respuesta dependerá del tipo de agente causal y de la rapidez de iniciado el tratamiento apropiado (6).

10. PREVENCIÓN Y CONTROL

Abarcará procedimientos como diagnóstico terapéuticos, higiénico sanitarios y preventivos simultáneamente.

- Evitar el hacinamiento de vacas de producción en locales inadecuados que no permitan la libertad de movimientos.

- Proporcionar una cama adecuada, debido a que esta puede influir en el tipo de bacterias presentes en la ubre.
- Evitar materiales que guarden mucha humedad en los locales.
- El agua de servicio debe ser potable.
- Evitar traumas en la ubre.
- Establecer un orden de ordeño agrupado primero las vacas primerizas, luego vacas adultas sin mastitis y al final las vacas con mastitis.
- Lavado y desinfección de la ubre antes y después del ordeño, usando toallas de papel o un paño para cada animal.
- Colocar las copas de ordeño de uno o dos minutos luego de estimular el bajado de la leche.
- No sobreordeñar, el ordeño debe durar de cuatro a seis minutos.
- Al utilizar máquinas ordeñadas se deben desinfectar las copas de ordeño y sumergir las tetas de la vaca en un desinfectante después del ordeño.
- Que el ordeñador se lave y desinfecte las manos entre vaca y vaca.
- Tratamiento de los casos clínicos durante la lactación.
- Realización rutinaria de pruebas para la detección de mastitis subclínica.
Para evaluar y tratar en forma individual a cada animal positivo durante el período seco.
- Separar a las vacas con mastitis crónica.
- Asegurarse de que las vacas de reemplazo estén libres de infección.
- Revisar periódicamente el funcionamiento de las máquinas ordeñadoras (1,5,16).

IV. JUSTIFICACION

La mastitis es uno de los problemas económicos más importantes al que debe enfrentarse la industria lechera, no tanto en cuanto a pérdidas en animales, sino a la reducción la de cantidad y calidad de la leche que producen las vacas enfermas (11).

También existe el peligro de que la contaminación bacteriana de la leche sea inadecuada para el consumo humano por la patogenicidad que ésta representa, obstaculizando su industrialización o bien constituyendo un mecanismo para la diseminación de enfermedades al hombre (Tuberculosis, Faringitis Estreptocócica o Brucelosis) (5).

Se estima que una lechería afectada disminuye el 30% de su productividad y calidad, y una vaca afectada el 15% (5).

Según los datos proporcionados por la Derección General de Servicios Pecuarios (DIGESEPE) región 6, en su informe anual 1,996 la prevalencia de Mastitis en las aldeas de Caxaque y la Federación en el municipio de San Marcos, departamento de San Marcos es del 30% de los suscritos al programa. En dicho informe se establece que la prevalencia de mastitis puede sobrepasar el 30% debido a que hay un número conciderado de propietarios de lecherías que no están suscritos a dicha institución (4).

Si la prevalencia es mayor del 30% se concidera como cifra alarmante, tanto para la población lechera como para los concumidores (4). Por tal motivo, es de suma importancia determinar la prevalencia real en dichas

aldeas especialmente en las lecherías no suscritas al programa proporcionado por DIGESEPE.

En su informe anual 1996 DIGESEPE, realizó 178 estudios de mastitis, los cuales fueron sometidos a la prueba de California Mastitis Test; 80 casos fueron positivos a la prueba y 98 negativos. De los 98 casos negativos 9 fueron clasificados clínicamente como positivos. A los 9 casos no se les realizó estudios microbiológicos (4)

Por lo antes mencionado, se considera de mucha importancia establecer la correlación que existe entre las pruebas de California Mastitis Test y Microbiológico, debido a que en determinado momento pueden encontrarse casos falsos negativos reportados por la prueba de California Mastitis Test.

V. OBJETIVOS

1. GENERALES

1.1. Determinar la prevalencia de mastitis en ganado bovino de las aldeas de Caxaque y la Federación , en el municipio de San Marcos, departamento de San Marcos.

1.2. Generar información respecto al estado de Salud del ganado bovino productor de leche en las aldeas de Caxaque y La federación, en el municipio de San Marcos, departamento de San Marcos.

1.3. Obtener resultados que permitan manejar apropiadamente al ganado bovino, para ofrecer un producto de origen animal de alta calidad.

2. ESPECIFICOS

2.1. Determinar la frecuencia de mastitis en ganado bovino lechero, aplicando las técnicas de diagnóstico California mastitis Test, Gram, Cultivo e Identificación del agente infeccioso.

2.2. Establecer la correlación entre las pruebas California Mastitis Test, Gram Cultivo e Identificación del agente infeccioso, como diagnóstico para mastitis en ganado bovino lechero.

2.3. Determinar al agente etiológico infeccioso bacteriano que más afecta a los bovinos en las aldeas de Caxaque y la Federación, del municipio de San Marcos, departamento de San Marcos.

VI. HIPOTESIS

1. La prevalencia de Mastitis en las aldeas de Caxaque y la Federación en el municipio de San Marcos, departamento de San Marcos es menor del 15%.
2. Si existe correlación entre las pruebas California Mastitis Test, Gram, cultivo e identificación del agente infeccioso, para el diagnóstico de mastitis bovina.

VII. MATERIALES Y METODOS

1. UNIVERSO DE TRABAJO Y MUESTRA

El universo de trabajo lo integraron el ganado bovino lechero de las aldeas de Caxaque y la Federación, municipio de San Marcos, en el departamento del mismo nombre, en donde la prevalencia de mastitis es del 30% (4), existiendo en dichos lugares 120 fincas (de 6 cuadras promedio de dimensión), en dichas fincas hay 3 vacas lecheras promedio, haciendo un total de 360 vacas lecheras, de las cuales 170 vacas fueron estudiadas, obteniendo un total de 680 muestras de leche (cuatro muestras por vaca).

2. MEDIOS

2.1. Recursos humanos

- Autor: Br. Marco Vinicio Juárez G.
- Asesor: Dr. Byron López
- Coasesor: Licda. María del Carmen Bram.

2.2. Recursos Institucionales:

- Laboratorio Clínico Sail, Sanatorio Quirúrgico Sail, San Marcos.

2.3. Recursos Materiales

2.3.1. Medios de Cultivo: Agar Mc Conkey

Agar Manitol Sal

Agar Sangre

TSI, LIA, MIO, Citrato, Urea y plasma.

2.3.2. Reactivos: Colorante de Gram

- Purpura bromo-cresol
- Alkil-aril-sulfonato
- SXT, Taxo P, Taxo A
- 2.3.3. Materiales:
 - Asa de nicromo
 - Cajas de petri
 - Erlenmeyers
 - Recipientes de vidrio con tapón de rosca
 - Varillas de vidrio
 - Paletas plásticas (CMT)
 - Jabon
 - Yodo
- 2.3.4. Equipo:
 - Autoclave
 - Incubadora
 - Refrigeradora
 - Estufa
 - Mechero Bunsen

2.4. Procedimiento

2.4.1. Toma de Muestra:

La toma de muestra se realizó por la mañana de la siguiente manera antes del ordeño:

2.4.1.1. Desinfección de las ubres, con agua y jabón.

2.4.1.2. Eliminación de la primera porción de leche.

2.4.1.3. Toma de la muestra en frasco estéril, por cada pezón, la cual será llevada al laboratorio para su análisis microbilógico, el cual incluye: Gram inicial, siembra de las muestras en agar MacConkey, Manitol sal y agar-sangre, después de incubar a 37°C por 24 hrs. se identificará el microorganismo según sea el caso.

2.4.1.4. Seguidamente se tomarán 5 ml de leche por cada pezón, los cuales se depositarán en las paletas de California Mastitis Test para ser analizados. De inmediato se observará la reacción de cada pezón, según lo descrito en la tabla de interpretación de resultados para California Mastitis Test en anexos.

2.4.1.5. A los tres días dichos exámenes se compararán.

2.4.2. Prueba de California: (5,6)

Se realizó de la siguiente manera:

2.4.2.1. Colocar 5 ml. de leche en el poso de la paleta correspondiente a cada pezón muestreado, siendo así:

- Pezón anterior derecho: I
- Pezón anterior izquierdo: II
- Pezón posterior derecho: III
- Pezón posterior izquierdo: IV

2.4.2.2. Agregar igual cantidad de reactivo de California Mastitis Test.

2.4.2.3. Agitar en forma circular de 10 a 20 segundos.

2.4.2.4. Interpretar y anotar los resultado en la ficha correspondiente. Los resultados se interpretarán de la siguiente manera: si existe formación de gel se obtiene una relación aproximada de células leucocitarias existentes en la

muestra (Anexo 4 tabla No.4), tomándose este resultado como positivo; si no hay formación de gel se toma como negativo.

2.4.3. Análisis microbiológico:

2.4.3.1. Gram:

- En un portaobjetos se marca un área determinada
- 0.01 ml. De leche se esparce sobre el área marcada uniformemente
- Una vez seco el frotis, se tiñe con la coloración de Gram
- La preparación se examina al microscopio (11,12).

2.4.3.2. Cultivo e identificación:

2.4.3.2.1. *Pseudomonas sp* :

Inocular una asada de la muestra en agar MacConkey

Crecimiento en MacConkey

(Colonias Lactosa negativo)

Oxidasa

OF

Bateria

TSI, LIA, MIO, CITRATO, UREA

Para la interpretación de los resultado (Anexo 3 tabla No.3).

2.4.3.2.2. *Streptococcus agalactiae* :

Inocular una asada de la muestra en agar-sangre

Atmosfera de CO₂

(Observar colonias con beta-hemolisis)

Taxos A

SXT

CAMP

Para la interpretación de resultados (Anexo 2 tabla No.2).

2.4.3.2.3. *Staphylococcus aureus* :

Inocular una asada de la muestra en agar-sangre

Crecimiento de colonias típicas

Catalasa positivo

Coagulasa

Manitol sal

Para la interpretación de resultados (Anexo 1 tabla No.1)

3. DISEÑO DE LA INVESTIGACION

3.1. Cálculo del número de muestra

$$n = \frac{Z^2 \cdot P \cdot Q \cdot N}{(n-1)E + Z^2 \cdot P \cdot Q} \quad n = \frac{(1.96)^2 (0.30)(0.70)360}{359 \times (0.05) + (1.96)^2 \times (0.30) \times (0.70)}$$

n = 170 vacas.

Donde: Z= Confianza 95%= 1.96, P= Prevalencia 30%= 0.30, Q= 1-P= 0.7,

E= Precisión= 0.05, N=Tamaño de población= 360 a estudiar.

3.2. Análisis de Datos

3.2.1. La prevalencia de mastitis se hizo según la fórmula siguiente:

$$\frac{\text{No. De casos en un momento dado}}{\text{No. Del total de la población que interesa}} \times 100 \%$$

No. Del total de la población que interesa

3.2.2. La correlación de la pruebas se analizó utilizando una prueba de correlación para variables cualitativas.

VIII. RESULTADOS

Se trabajaron 680 muestras de leche provenientes de 170 vacas lecheras. Cada una de las muestras fué analizada por la prueba de campo California Mastitis Test y por las pruebas de laboratorio Gram, Cultivo e identificación del agente causal de mastitis bovina, los resultados globales en porcentajes para cada prueba fueron los siguientes:

Prueba	Positivo %	Negativo %
C.M.T.	28.81	71.19
Gram	30.00	70.00
Cultivo	30.00	70.00

y pueden ser analizados ampliamente en anexos (Anexo 5 tablas Nos. 5 y 6).

El microorganismo aislado en mayor porcentaje fue:

Microorganismo	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	60
<i>Streptococcus agalactiae</i>	35
<i>Escherichia coli</i>	5

Ver Anexo 5 tabla No. 7.

Analizando las tablas 5 y 6 de anexos se observa que por la prueba de California Mastitis Test 49 casos son positivo y por las pruebas de laboratorio 51 casos son positivos, tomanando este último como referencia de confirmación de mastitis bovina la prevalencia de mastitis bovina en el estudio es de 30%, además existe una variación mínima en la correlación de las pruebas utilizadas en el estudio, esta variación es de un 1.2 % de error utilizando C.M.T. y de 0.0 % utilizando las pruebas de laboratorio.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Dados los resultados se observa que la probabilidad de error en el diagnóstico de mastitis bovina utilizando la prueba de California Mastitis Test es del 1.2 %, comparandola con las pruebas de laboratorio que es del 0.0 %. Basandose en lo anterior se consideran válidos los resultado de las pruebas de laboratorio para un mejor diagnóstico de mastitis bovina, dicho lo anterior, cabe mencionar que por razones financieras los propietarios de las lecherías prefieren utilizar la prueba de C.M.T. que es económica de fácil manejo y de resultado inmediato, mientras que las pruebas de laboratorio son caras y el resultado se obtiene en 3 días; la diferencia de hacer un examen de laboratorio radica en que es 100 % exacto, con menos probabilidades de obtener un resultado falso negativo. Lo anterior se rectifica analizando los resultados (Anexo 5 tablas Nos.5 y 6) donde 49 casos de mastitis bovina se reportan utilizando el C.M.T. y que 51 casos son reportados mediante el uso de las pruebas de laboratorio, de igual manera 121 casos se reportan negativos utilizando C.M.T., y 119 con las pruebas de laboratorio; esto indica que 2 vacas son tomadas como sanas utilizando C.M.T. mientras que el laboratorio indica que estas mismas vacas se clasifican como enfermas de mastitis.

El microorganismo aislado con mayor frecuencia como causante de mastitis bovina en las aldeas estudiadas es *Staphylococcus aureus*, este dato no concuerda con lo dicho en la literatura en donde se indica que *Streptococcus agalactiae* suele infectar en un 80 % en grandes establos

lecheros, generalmente se admite que el modo más frecuente de difusión es mediante las manos del ordeñador o los pezoneras de la ordeñadora mecánica (2), en el estudio se visitaron establos pequeños donde las vacas existentes eran de una a tres, además hubo desinfección previa tanto en las ubres de las vacas como las manos de los ordeñadores (Anexo 6 tabla No.7).

Una prevalencia de 30 % en estas aldeas sugiere normatizar el ordeño y exigir a las autoridades competentes la supervisión y vigilancia de los establos para una mejor prevención de la enfermidad.

X. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de Mastitis en ganado bovina en las aldeas de Caxaque y la Federeación en el municipio de San Marcos, departamento de San Marcos es del 30 %.
2. Existe una diferencia significativa entre las pruebas de California Mastitis Test, Gram, Cultivo e identificación del agente causal, siendo las tres últimas más precisas para el diagnóstico de mastitis bovina.
3. El buen manejo, desinfección de las ubres e higiene del ordeñador disminuye el riesgo de mastitis bovina.
4. El método de California Matitis Test debe continuarse utilizando a nivel de campo en forma rutinaria y confirmar todas aquellas muestras que sean sospechosas de un resultado falso negativo, utilizando las pruebas de laboratorio Gram, Cultivo e Identificación del agente causal para el diagnóstico de mastitis bovina.

XI. RECOMENDACIONES

1. Continuar con la utilización del método de California Mastitis Test para diagnóstico de mastitis en bovinos, como prueba de rutina a nivel de campo y fomentar al ganadero la utilización de los exámenes de laboratorio Gram, Cultivo e identificación del agente causal, los cuales identificarán casos no diagnosticados de mastitis en forma rápida. Su propósito será separar los animales que probablemente padecen mastitis de aquellos que no la padecen. Los individuos con resultados negativos a pruebas rápidas deberán ser analizados posteriormente para establecer un diagnóstico de laboratorio definitivo, para así obtener mejores rendimientos en la producción de la leche y sus derivados.
2. Que se difunda entre los ganaderos dedicados a la producción de leche los conocimientos básicos sobre mastitis y por ende las ventajas que conlleva un diagnóstico de mastitis seguro, para que con ello se llegue a producir más leche y de mejor calidad.

XII. REFERENCIAS.

- 1.- Figueroa, M. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos de Centroamérica. Universidad Estatal a Distancia. Costa Rica, San José. 1984. (691 p).
- 2.- Mercha, T.I.; Packer, R.A. Bacteriología y virología. 3 ed. España, Zaragoza. Acribia. 1982. (767 p).
- 3.- Prem, J.J. Evaluación de los metodos de California Mastitis Test, conteo de células en la cámara de New Bauer y directo microscópico para conteo de células somáticas en el diagnóstico de mastitis subclinica bovina. Tesis Médico Veterinario Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1990. (85 p).
- 4.- Ligorria, J.M. Informe Anual de Actividades Subregión 6-II. Dirección General de Servicios Pecuarios. San Marcos, Guatemala. 1996.
- 5.- Bottone, E.J. Schneiersons Atlas of diagnostic microbiology. 7 ed. Estados Unidos, Chicago Illinois. 1987. (79 p).
- 6.- Manual Sobre Ganado Productor de Leche. Domínguez, M.P. Ed. México, D.F. Diana. 1982. (771 p).

- 7.- Gibbons, W.J.; Catcott, E.J.; Smithcors, J.F. Bovine medicine and surgery. Estados Unidos, Chicago Illinois. American Veterinary publication. 1970. (847 p).
- 8.- Mercha, T.I.; Packer, R.A. Bacteriología y virología. 3 ed. España, Zaragoza, Acribia. 1982. (767 p).
- 9.- Blood, D.C.; Henderson, J.A.; Radostitis, O.M. Medicina Veterinaria. Colchero F., trad. 6 ed. México, Interamericana. 1986. (1441 p).
- 10.- Lennete EH. et al. Manual of Clinical Microbiology. 5 ed. American Society for Microbiology. USA, Washington DC. 1990.
- 11.- Pelczar, M.T.; Reid, R.D.; Chan, E.C.S. Microbiología. Copella A.; Tay J. Trad. 5 ed. México, D.F. Mc Graw Hill. 1993. (826 p).
- 12.- Sitites, D.P.; Terr, A.I. Inmunología básica y clínica. Ramirez T.A. trad. 7 ed. México, D.F. Manual Moderno, S.A. de C.V. 1993. (1055 p).
- 13.- Gini, G.A. Manual de procedimiento para la identificación de las bacterias con importancia clínica. 2 ed. Guatemala, Merck. 1995. (139 p).

- 14.- MacFaddin , J.F. Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. 2 de. Baltimore, Williams & Wilkins, 1980. 527:(371-438).
- 15.- Manser, P.A. Prevalence, causes and laboratory diagnosis of subclinical mastitis in the goat. The Veterinary Record. 1982. 118:(552-554).
- 16.- Heidrich, H.J.; Reenk, W. Diseases of the mammary glands of domestic animals. Heever V.D. trad. Philadelphia. Saunders. 1988. (371 p).
- 17.- Howard, J.L. Current Veterinary therapy. EE. UU., Philadelphia. Saunders. 1986. (958 p).
- 18.- Ellgutter, E.P. Importancia técnica y económica de la mastitis bovina en el municipio de Santa Rosa. Tesis Médico Veterinario, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1979. (51 p).
- 19.- Fernando, R.S.; Ringsing, R.B.; Spahr, S.L. Electrical conductivity of milk for detection of mastitis. Journal of Dairy Science. 1982. 65(4): (659-664).
- 20.- Wintrobe, M.M. Clinical Hematology. 5 ed. EE. UU., Philadelphia. Lea & Febiger. 1984. (1186 p).

- 21.- Ginn, R.E.; Thomposon, D.R.; Packard, V. S. Collabarative study of the coulter counter-chemical method for countig cells in raw milk. *Journal of food protection*. 1987. 40(7):(456-458).
- 22.- Fernando, R.S.; Spahr, S.L.; Jaster, E.H. Comparison of electrical conductivity of milk with other indirect methods for dectection of subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*. 1985. 68(2):(449-456).
- 23.- Foster, M.E. et al. *Microbiología de la leche*. Palazón R. Trad. México, Centro Regional de Ayda Técnica, AID. 1965 (490 P).
- 24.- Cardenas, H.R. Estudio de Mastitis bovina en San Martín Jilotepeque, Chimaltenango, Guatemala. Tesis Médico Veterinario, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria. 1975. (51 p).
- 25.- Schalm, O.; Carrol, E.J.; Jain, N.C. *Bovine mastitis*. EE. UU. Philadelphia. Lea & Febiger. 1991 (360 p).
- 26.- Arizandieta, C.G. Estudio de mastitis subclínica en la cuenca lecherade la región sur occidente del país: prevalencia, diagnóstico de campo, tipificación y antibiogrma de los agentes causales y enfoque económico. Tesis Médico Veterinario. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 1992. (89 p).

- 27.- Sheldrake, R.F.; McGregor, G.D.; Hoare, R.J. Somatic cell count, electrical conductivity, and serum, albumin concentration for detecting bovine mastitis. *Journal of Dairy Science*. 1993. 66(3):(548-555).
- 28.- Benavidez, M.R. Estudio de mastitis bovina en el municipio de Masagua, departamento de Escuintla. Tesis Médico Veterinario, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 1980. (45 p).
- 29.- Coffey, E.M.; Vinson, W.E.; Pearson, R.E. Somatic cell counts and infection rates for cows of varying somatic cell count in initial test of first lactation. *Journal of Dairy Science*. 1986. 69(2):(552-555).
- 30.- Coffin, D.L. Laboratorio clínico en medicina veterinaria. Santibáñez M., Urrusti J. Trad. México, 1966. (335 p).
- 31.- Agenjo, C. Enciclopedia de inspección veterinaria y análisis de alimentos. Madrid, España, Espasa Calpe, 1980. 1313 p.
- 32.- Park, W.Y.; Humphrey, R.D. Bacterial cell counts in goat milk and their correlations with somatic cell counts, percent fat, and protein. *Journal of Dairy Science*. 1986. 69(1):(32-37).

- 33.- McDermott, M.; Erb, H. Value of milk cell counts. *Journal of the Veterinary Medical Association*. 1984. 184(11):(1350).
- 34.- Caceres, J. Prevalencia e identificación de bacterias causales de mastitis y su tratamiento por medio de antibiograma en el valle lechero de Tactic, Alta Verapaz. Tesis Médico Veterinario. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1981. (43 p).
- 35.- Franco, L.A. Prevalencia de Mastitis bovina en el Parcelamiento Montúfar, municipio de Moyuta, departamento de Jutiapa, Guatemala. Tesis Médico Veterinario, Universidad de San Carlos de Guatemala. 1979. (41 p).

XIII. ANEXOS.

Anexo No. 1.

Tabla No. 1. Propiedades químicas para la identificación de
Staphylococcus aureus.

Prueba	Reacción
Catalasa	+
Oxidasa	-
Red. Nitrito	+
Movilidad	-
OF-glucosa	F
Crecimiento en NaCl 15%	C
Bilis esculina al 40%	C
Manitol sal	A
Cuagulasa	+
Licuefacción de Gelatina	+
Hidrólisis de la Esculina	-
H ₂ S	+
Voges-Proskauer	+
DNasa	+
Novobiocina	S
Bacitracina 0.04 U	R

Acido: A, crecimiento: C, fermentativo: F, negativo: -, positivo: +, sensible: S,
resistente: R, variable: V, datos tomados de (10,12,13).

Anexo No. 2.

Tabla no. 2. Propiedades bioquímicas para la identificación de
Streptococcus agalactiae.

Prueba	Reacción
Taxo A	R
SXT	R
Hidrolisis del hipurato	+
CAMP	+
NaCl 6.5%	+/-
Bilis Esculina	-

Negativo: -, positivo: +, resistente: R. datos tomados de (10,12,13)

Anexo No. 3.

Tabla No. 3. Propiedades bioquímicas para la identificación de
Pseudomonas aeruginosa.

Prueba	Reacción
Glucosa -OF	+
Maltosa -OF	-
Xilosa -OF	V
Citratos	+
Nitratos	+
Urea	V
OIA	-, -, +
Gelatina 22 C	+
Oxidasa	+

Negativo: -, positivo: +, variable: V; todas las *Pseudomonas* son indol +; datos tomados de (10,12,13)

Anexo No. 4.

Tabla No. 4. Datos para la lectura e interpretación de California Mastitis

Test.

Simbolo	Significado	Células Somáticas /ml	% de neutrófilos	Perdida de Leche.
-	Negativo	0 - 200,000	0 - 25	Negativo
T	Trazas	150,000 - 500,000	30 - 40	6
1 +	Debilmente positivo	400,000 - 1,500,000	40 - 60	10
2 +	Claramente positivo	800,000 - 5,000,000	60 - 70	16
3 +	Fuertemente positivo	Generalmente superior a 5,000,000		25

Datos obtenidos de (5,6).

Anexo No. 5.

Tabla No. 5. Casos positivos de mastitis bovina.

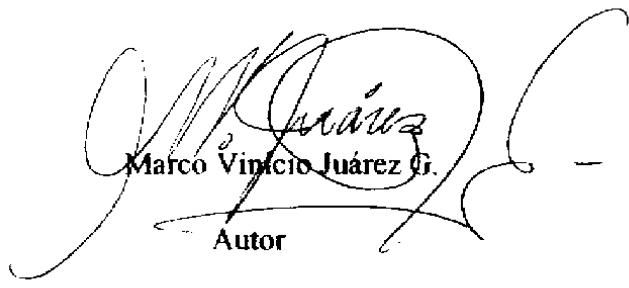
Prueba	No. de vacas positivas
C.M.T.	49
Gram	51
Cultivo	51

Tabla No. 6. Casos negativos de mastitis bovina.

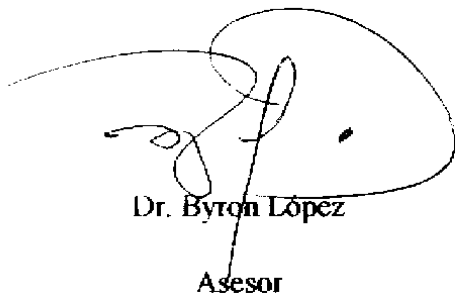
Prueba	No. vacas negativas
C.M.T.	121
Gram	119
Cultivo	119

Tabla No. 7. Microorganismo aislado con mayor frecuencia.

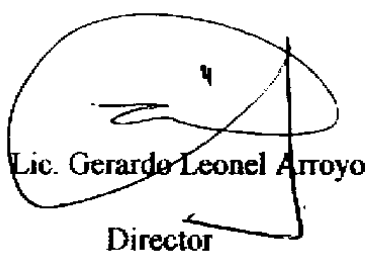
Microorganismo	No. Casos aislados
<i>Staphylococcus aureus</i>	30
<i>Streptococcus agalactiae</i>	18
<i>Escherichia coli</i>	3




Marco Vinicio Juárez G.
Autor



Dr. Byron López
Asesor



Lic. Gerardo Leonel Arroyo
Director

Por: 
Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano